OUKA
The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	RIAによる家兎排卵時血中LH動態に関する研究
Author(s)	市位, 光
Citation	大阪大学, 1973, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/30976
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

The University of Osaka

【25】

氏名・(本籍)	市位(いちい) 光(ひかる)
学位の種類	医学博士
学位記番号	第2978号
学位授与の日付	昭和48年12月26日
学位授与の要件	学位規則第5条第2項該当
学位論文題目	**RIAによる家兎排卵時血中LH動態に関する研究**
論文審査委員	(主査) 教授 倉智 敬一
	(副査) 教授 伴 忠康　教授 熊原 雄一

論文内容の要旨

〔研究目的〕

従来、家兎は実験動物としての好条件を備えているため、刺激排卵動物のモデルとして、生殖生理学上の重要な研究課題の一つである排卵現象の究明のため、比較的多くの検討が加えられてきた。しかしながら排卵と密接な関係を有するLūteinizing Hormone(LH)の測定がBioassayによられていたため、血中のLH動態に関する報告は数少ない。

そこで著者は家兎の血中LH測定法の確立が急務と考え、各種動物間のLHの免疫学的交叉反応を利用してRadioimmunoassay(RIA)を設定し、血清levelでの詳細なLH動態を追跡し、排卵生理の究明に役立てようとして研究をおこなった。

〔実験材料および方法〕

抗LH血清の調製：ヒツジLH(NIH-LH-S8)を抗原としcomplete Freund's adjuvant法によりモルモットに皮内注射をおこなって調製した。抗原総量は1モルモットあたり12.5mg、得られた抗血清は正常ヒツジ血清および筋組織で吸収後1：60000に稀釈して使用した。

放射性ヨード(I^{125})によるLHの標識方法：ラットLH(NIAMD-RAT-RP-1)をGreenwoodらの方法により標識した。

RIA測定手技：谷沢らのHuman Chorionic Gonadtropin(HCG)測定法に準じ、第2抗体として抗モルモットγ-Globulin血清(1:25稀釈)を用いる二抗体法を実施し、沈渣の放射能はwell type scintillation counter(ALOKA製)で測定した。家兎下垂体のBioassay：Sprague Dawhley系幼若白鼠に経耳的下垂体剔除を施行し、腹側前立腺重量増加法(VPW法)により測定した。

家兎血清の測定試料：体重2.3～3.2kgの雌性成熟家兎をオリエンタル固型飼料GC-4にて飼育し、エーテル麻酔のもとに、大腿静脈にアトム静脈カテーテル(3Fr)を留置し、経時的採血をおこなう

た。LH-RHおよびそのAnalogue, $CuSO_4$は耳静脈より投与した。血清は分離後、使用時まで−20℃にて凍結保存した。

〔実験成績ならびに考察〕

1） RIAの検討：家兎下垂体homogenateおよび家兎血清による阻害曲線は標準ラットLHによる標準阻害曲線と極めてよく平行し、又家兎下垂体homogenateのRIAによる測定値とVPW法を用いたBioassayによる測定値とは高い相関関係（相関係数$\gamma=0.82$）を示した。これによりラットLH、抗ヒツジLHモルモット血清を組み合わせた異種動物間の抗原抗体系を用いて家兎LHの測定が可能であることが判明した。本法による測定限界は20ng/mℓ（NIAMD-RAT-LH-RP-1、相当量）至適測定範囲は50ng/mℓ～2.5μg/mℓであり、充分に血中LHの変動をdetectできる感度を有することがわかった。

2） 合成LH-RHの投与により、ヒト、ラットと同じく家兎血中LHも増加する。LH-RH投与後5分で増加の傾向を示し、10～30分で最高値に達し以後漸減する。0.1μg以下の投与量では血中LHの増加は認められず、排卵を惹起するには到らなかった。1～100μgの投与範囲ではdose responseを示し、10μg以上の投与群では全例に排卵を認めた。排卵に必要な血中LHの最小濃度はpeak値よりみて380～640ng/mℓ範囲にあった。又血中LHの増加はprogesteroneの前処置により抑制され、estrogenの前処置では促進された。

3） 銅塩の投与により家兎が排卵を起す現象（銅塩排卵）と血中LH動態の関係を解明するために、$CuSO_4$投与を行った。投与後30分で血中LHは増加の傾向を示し、60～120分で最高値に達し以後緩徐に減少する。血中LH levelと投与$CuSO_4$量との関係は、LH-RH投与時に認められたdose responseは示さず、増加を示すものと示さないものとの2群にわかれ、前者には排卵を認め、後者には認め得なかった。又血中LHの増加はprogesteroneの前処置により抑制され、estrogenの前処置では促進された。

LH-RHと$CuSO_4$投与後の血中LH動態の相違はtargetのちがい（下垂体前葉と視床下部）を反映しているものと考えられる。

4） 去勢後3週間の範囲内では血中LHの変動は認められなかった。

〔総 括〕

1） RIAを設定し、家兎血中LH動態の追跡を可能にした。

2） LH-RH, $CuSO_4$投与後の血中LHの変動と排卵の関係を明らかにし、下垂体と視床下部刺激による反応性の相違を追求した。

論文の審査結果の要旨

生殖生理学の研究に際し、家兎はしばしば実験動物として使用され、中枢の電気刺激や薬剤による排卵の実験に用いられてきた。しかし家兎の下垂体性黄体化ホルモンLHはbioassayで経時的に1羽の家兎について測定することは不可能であり、これまで排卵の生理についても詳細な解析が困難であ

った。そこで市位はRadioimmunoassay法をこの分野に導入し、ヒツジ・ラット・家兎LHが相互に免疫学的に交叉反応のあることを利用し、新しい測定法を確立した。基礎的検討成績では従来のbioassayによる測定値とも高い相関を示し、感度・精度ともにbioassayより秀れているので充分満足できることを知った。次にこれを応用し下垂体刺激物質にはLH-Releasing Hormoneを、視床下部刺激物質には銅塩(硫酸銅)を選び家兎耳静脈より投与後の血中LH分泌動態を著者のRadioimmunoassayで測定した。その結果LH-RHに対しては投与量1～100μgの範囲で用量反応関係は直線的に増加すること、銅塩投与では比較的長時間のLH放出がみられることを明らかにしたが銅塩量を減じると家兎の反応性はall or none的な反応を示すことを知った。更にエストロゲン・フロゲステロンのこれらLH放出に与える影響についても明らかにした。従って、本論文は生殖生理学研究に新しい実験モデルを提供したことにもなり、間脳・下垂体・性腺系の研究に今後広く役立つので学位論文として適当と考える。